

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.

A1

**DEMANDE
DE BREVET D'INVENTION**

⑪

N° 76 15734

⑥4 Nouvelle résine anionique à action hypocholestérolémiante, son procédé de préparation et compositions thérapeutiques la contenant.

⑥1 Classification internationale (Int. Cl.²). A 61 K 31/785; C 08 F 112/14.

②2 Date de dépôt 25 mai 1976, à 14 h 1 mn.

③3 ③2 ③1 Priorité revendiquée :

④1 Date de la mise à la disposition du
public de la demande B.O.P.I. — «Listes» n. 51 du 23-12-1977.

⑦1 Déposant : Société dite : ETABLISSEMENT VIRIDIS, résidant dans la Principauté de Liechtenstein.

⑦2 Invention de :

⑦3 Titulaire : *Idem* ⑦1

⑦4 Mandataire : Office Blétry.

La présente invention concerne une nouvelle résine échangeuse d'ions susceptible d'être employée en thérapeutique humaine comme agent hypocholestérolémiant.

On sait que les résines échangeuses d'ions ont trouvé une application dans le traitement de divers états pathologiques, comme par exemple l'hyperacidité, la prévention de la fuite de Na^+ dans les voies gastro-intestinales, l'induction de la fuite de K^+ , le traitement de l'oedème néphrotique, pancréatique, cardiaque, le traitement de l'ulcère, la neutralisation de l'acidité gastrique, etc.

Il est évident que tout état pathologique particulier nécessite une résine possédant des caractéristiques chimiques particulières, choisie dans le groupe constitué par des résines faiblement acides, des résines fortement acides, des résines faiblement basiques, des résines fortement basiques, en partant toujours de la présupposition qu'il s'agit de résines dépourvues de toxicité pour l'organisme humain. On sait que l'emploi de résines échangeuses d'ions a été étendu également, au cours de ces dernières années, au traitement des hyperlipidémies.

En effet, on attribue l'artériosclérose, l'infarctus du myocarde et la thrombose cérébrale à des taux trop élevés de lipides (essentiellement le cholestérol et les triglycérides) dans l'organisme. C'est donc un problème de large portée, pour lequel on n'a pas trouvé jusqu'ici la substance pharmaceutique décisive. On sait aussi que pour réduire les lipides à des taux normaux, il faut agir d'une part de l'extérieur, en excluant tous les aliments qui sont riches en lipides ou qui fournissent les matériaux pour les synthétiser et, d'autre part, de l'intérieur en empêchant les accumulations de la part de l'organisme. Les résines échangeuses d'ions à caractère basique agissent dans ce second mode en fixant au niveau de l'intestin les acides biliaires et en interrompant ainsi le recyclage entéro-hépatique, ce qui se traduit par une perte de cholestérol.

Les résines basiques utilisées jusqu'à présent, essentiellement des résines ammoniques ou aminiques, ont une capacité maximale d'échange de l'ordre de 3,5 méqu./g, valeur qui est trop

basse pour un résultat optimal. D'autre part, il n'est pas possible d'augmenter la teneur en groupes basiques de la résine et, par suite, sa capacité d'échange au-delà de la limite mentionnée.

Or, il a été découvert et il fait l'objet de la présente invention un nouveau type de résine échangeuse d'ions, particulièrement adaptée pour fixer les acides biliaires, résine avec laquelle il est possible, en mettant à profit non seulement ses propriétés chimiques mais aussi sa structure physique, d'atteindre un degré plus élevé de capacité d'échange et de ramener les taux de lipides perturbés à des valeurs normales.

La nouvelle résine échangeuse d'ions qui fait l'objet de la présente invention est caractérisée par les points suivants :

- structure fondamentale styrolique réticulée avec des groupes actifs ammoniques (résine anionique forte) ou aminiques (résine anionique faible), avec des pourcentages de réticulation compris entre 8 et 20%;
- concentration élevée en groupes actifs, comprise entre 15 et 30%;
- porosité critique en tant que densité des pores, comprise entre 0,3 et 0,6 cm³/g;
- porosité critique en tant que forme des pores, adaptés particulièrement à l'absorption et à la retenue des sels biliaires, avec un diamètre moyen compris entre 150 et 200 Å.

La nouvelle résine est préparée par la réalisation des phases suivantes :

1. Préparation d'une matrice polystyrolique réticulée en présence d'un agent porogène;
2. Amination de la matrice polystyrolique poreuse.

La phase 1 peut être réalisée selon différents modes, mais tous sont caractérisés par des éléments critiques ou constantes bien définis, déterminés par le fait qu'il a été découvert que la quantité et surtout la forme des pores dépend de :

- la nature chimique et la structure de l'agent porogène, lequel doit avoir une disposition spatiale analogue à celle des stéroïdes, doit être inerte dans les conditions de polymérisation et doit pouvoir être éliminé facilement sans endommagement du polymère lors-

que la polymérisation est effectuée;

- le pourcentage en poids de l'agent porogène par rapport au poids du mélange de monomères;
- la vitesse de polymérisation;
- 5 - le type de l'agent réticulant;
- le degré de réticulation.

1a. On prépare la matrice de la résine en copolymérisant du styrène avec un monomère réticulant, choisi de préférence dans le groupe constitué par le divinylbenzène, le divinyltoluène, le divinyl-
10 vinylnaphtalène, le divinylxylène, le divinyléthylbenzène, le trivinylbenzène ou similaires. Le comonomère préféré est le divinylbenzène.

La quantité de monomère réticulant doit être comprise entre 18 et 20% en poids par rapport au poids total du mélange de mono-
15 mères.

La polymérisation est menée en suspension, le mélange des monomères étant mis en suspension dans un milieu dans lequel ils sont pratiquement insolubles. Un milieu qui convient est le milieu aqueux en présence d'un agent de dispersion tel qu'un sel ammoni-
20 que d'un copolymère styrène-anhydride maléique, la carboxyméthylcellulose, la bentonite ou similaires.

La polymérisation est du type radicalaire et elle est déclenchée au moyen de catalyseurs choisis de préférence dans le groupe constitué par le peroxyde de lauroyle, le peroxyde de benzoy-
25 le, le peroxyde de butyle tertiaire, le peroxyde de cumène, le peroxyde d'acétylène, etc. La quantité de catalyseur requise est liée étroitement au type du mélange de monomères utilisé et elle peut varier entre 0,01 et 3%, de préférence entre 0,5 et 2% en poids par rapport au poids des monomères.

30 La polymérisation est menée en présence de l'agent porogène qui est choisi dans le groupe constitué par le squalène, des paraffines solides ou liquides, des stéroïdes hydrogénés, le naphtalène ou des composés similaires ayant une structure spatiale stéroïdique et un poids moléculaire compris entre 200 et 500.

35 La quantité d'agent porogène est comprise de façon critique entre 80 et 150% en poids. Les résultats les meilleurs ont été

obtenus jusqu'ici en utilisant le squalène comme agent porogène et en appliquant des rapports en poids de 1 : 1 avec le mélange de monomères. Lorsque la polymérisation est achevée, l'agent porogène est éliminé par des extractions successives avec un solvant organique approprié, le cas échéant à chaud. On a obtenu de bons résultats avec l'alcool éthylique. La vitesse de polymérisation doit être réglée entre des limites très étroites qui dépendent du type et du pourcentage du monomère réticulant, du type et du pourcentage de l'agent porogène.

10 1b. La résine styrolique préparée selon le procédé décrit dans le paragraphe 1a précédent est modifiée par introduction d'un groupe susceptible d'être facilement attaqué par un composé aminique. De préférence, un semblable groupe est le groupe chlorométhyllique. La réaction de chlorométhylation est exécutée au moyen d'éther méthylique de chlorométhyle ou au moyen d'éther vis-chlorométhyllique.

15 Pour obtenir finalement une résine échangeuse d'ions à haute teneur en groupes actifs, comprise dans les limites indiquées entre 15 et 30%, il est nécessaire d'introduire un fort pourcentage de groupes chlorométhylliques, compris à peu près dans les mêmes limites. Pour obtenir ce résultat, la réaction de chlorométhylation doit être menée en présence d'un catalyseur du type acide de Lewis, choisi dans le groupe constitué par : $AlCl_3$, $ZnCl_2$, $TiCl_4$, $TiCl_3$, $SnCl_4$, $FeCl_3$.

25 1c. On prépare la matrice de la résine en copolymérisant un chlorure de vinylbenzyle avec un monomère réticulant, choisi de préférence dans le groupe constitué par le divinylbenzène, le divinyltoluène, le divinylnaphtalène, le divinylxylène, le divinyléthylbenzène, le trivinylbenzène ou similaires.

Le comonomère préféré est le divinylbenzène.

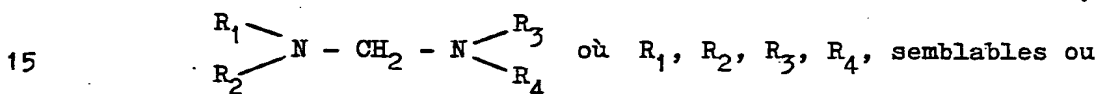
30 Toutes les autres conditions de polymérisation sont identiques à ce qui a été indiqué dans le paragraphe 1a précédent.

De cette manière, on obtient directement le chlorométhylate polymère dès la phase de polymérisation, avec le pourcentage voulu de groupes chlorométhylliques. Pour régler ce pourcentage dans les limites voulues entre 15 et 30%, on peut substituer totalement ou seulement partiellement le styrène avec du chlorure de

vinylbenzyle dans le processus de copolymérisation.

La phase 2 d'amination de la matrice styrolique, c'est-à-dire la phase d'activation de la résine par introduction des groupes réagissant à l'échange d'ions, peut être menée de différentes manières, dépendant également du type de polymère traité et du type du groupe aminique que l'on cherche à introduire. Toutefois, cette phase ne peut varier que d'un point de vue chimique, du fait que la structure physique de la résine a été fixée dans la première phase de préparation et n'est plus modifiée.

- 2a. La résine styrolique poreuse obtenue selon 1a est soumise à un traitement d'amino-méthylation par réaction avec des diamines du type



différents les uns des autres, sont des groupes alcoyles à 1-4 atomes de carbone.

- Dans des conditions appropriées (température aux alentours de 100°C et pression de 3 atm environ), ces diamines libèrent l'ion $\begin{array}{c} R_1 \\ \diagdown \\ N-CH_2 \\ \diagup \\ R_2 \end{array}^+$, capable de réagir avec les atomes d'hydrogène libre sur le noyau styrolique. Les groupes méthylaminiques ainsi liés à la matrice polymère peuvent être ensuite alcoylés jusqu'au degré maximal de substitution de l'azote (azotequaternaire) avec les agents courants d'alcoylation tels que le sulfate de diméthyle, le chlorure, le bromure ou l'iodure de méthylène.

- 2b. La résine styrolique modifiée, obtenue selon ce qui a été décrit dans le paragraphe 1b, est activée par réaction avec l'ammoniac, avec une dialcoyl-amine ou avec une trialcoyl-amine qui sont fixés sur les groupes chlorométhyliques.

Les produits contenant les groupes aminiques libres ou dialcoylaminiques peuvent être encore alcoylés jusqu'à l'obtention du degré maximal de substitution de l'azote, avec les agents d'alcoylation usuels.

- En appliquant ce mode de réalisation du procédé, on peut obtenir une concentration en groupes actifs plus élevée que dans

1 cas précédent et comprise entre 25 et 30%.

2c. La résine styrolique obtenue d'après le procédé 1c est activée par introduction de groupes aminiques ou ammoniques, exactement de la manière décrite dans le paragraphe 2b.

5 En conclusion, la nouvelle résine selon l'invention présente les caractéristiques critiques suivantes :

- concentration en groupes actifs	15-30%
- pouvoir d'échange	3,9-6 méq/g
- pourcentage de réticulation	8-20 %
10 - diamètre moyen des pores	env. 150-200 Å
- surface spécifique	70-100 m ² /g
- porosité	0,4-0,6 cm ³ /g
- densité réelle	0,9-1,1 g/cm ³
- densité apparente	0,5-0,6 g/cm ³
15 - granulométrie	250 - 177 µ

Afin de mieux faire comprendre ce qui a été exposé ci-dessus, on donnera ci-après quelques exemples de préparation qui ont un caractère indicatif, mais non limitatif de l'invention.

EXEMPLE 1.

20 Un mélange de 33,3 parties en poids de styrène, 16,7 parties de divinylbenzène (DVB) ayant un titre de 60% et 50 parties en poids de squalène est mis en suspension, sous agitation, dans une solution aqueuse de gélatine à 20% en poids. A cette suspension,
25 on ajoute 1 partie de bentonite et, en tant que catalyseur, 0,2 parties en poids de peroxyde de lauroyle. La suspension est chauffée pendant 40 h à 65°C, puis pendant 10 h à 90°C.

Les perles opaques ainsi obtenues sont lavées soigneusement; puis on extrait le squalène avec de l'alcool éthylique au soxelet. L'extraction est suivie d'un stripping à la vapeur, puis
30 d'une exsiccation en circuit pneumatique.

1 partie de produit sec est traitée par 5 parties d'éther méthylique de chlorométhyle et 2 parties de chlorure de zinc à la température de 50°C pendant 7 h, jusqu'à l'obtention d'un produit
35 ayant une teneur en Cl de 19%.

Le mélange est ensuite versé dans 20 parties de H₂O et neutralisé avec une solution aqueuse concentrée de NaOH.

Le chlorométhylate intermédiaire est séché, regonflé partiellement avec du toluène (22% en poids) et traité par 3 parties d'une solution aqueuse de triméthylamine à 70%, à la température de 80°C, dans un autoclave sous pression pendant 5 h. Puis le produit est lavé, d'abord avec de l'eau, puis avec une solution de NaCl à 5%.

On obtient une résine échangeuse anionique ayant les caractéristiques suivantes :

10	- pourcentage de réticulation	11,3
	- pouvoir d'échange	3,9 méq/g
	- diamètre moyen des pores	200 Å env.
	- surface spécifique	70 m ² /g
	- porosité	0,4 cm ³ /g
15	- densité réelle	1,10 g/cm ³
	- densité apparente	0,54 g/cm ³
	- granulométrie	250 - 177 µ

EXEMPLE II

En menant la polymérisation comme dans l'Exemple 1, mais en appliquant un rapport monomères/agent porogène de 1,2:1 et en utilisant une composition porogène formée de 70 parties de squalène, 20 parties de n-octanol et 10 parties de paraffine (42-45°C), on obtient une résine présentant les caractéristiques suivantes :

25	- pourcentage de réticulation	11,3
	- pouvoir d'échange	4,5 méq/g
	- diamètre moyen des pores	190 Å environ
	- surface spécifique	85 m ² /g
	- porosité	0,6 cm ³ /g
30	- densité réelle	1,11 g/cm ³
	- densité apparente	0,50 g/cm ³
	- granulométrie	250-177 µ

EXEMPLE III

On prépare une matrice polystyrénique en procédant exactement de la manière décrite dans l'Exemple II. Toutefois, dans la phase de chlorométhylation, on utilise comme catalyseur FeCl₃ à la place de ZnCl₂, dans le même rapport pondéral. On obtient un chlo-

rométhylat intermédiaire qui contient 25% de Cl. Ce produit intermédiaire est aminé avec une quantité de diméthylamine (solution à 60%) égale à 60% en poids du produit chlorométhylaté, en présence de NaOH (100%), à la température de 140°C et sous 10 atm eff. pendant 3 h.

5

On obtient une résine ayant les caractéristiques suivantes :

	- pourcentage de réticulation	11,3
	- pouvoir d'échange	5,7 méq/g
10	- diamètre moyen des pores	200 Å env.
	- surface spécifique	85 m ² /g
	- porosité	0,6 cm ³ /g
	- densité réelle	1,12 g/cm ³
	- densité apparente	0,50 g/cm ³
15	- granulométrie	250-177 µ

Pour mettre en évidence la capacité des nouvelles résines selon l'invention à éliminer les acides biliaires présents dans l'intestin et, par suite, à interrompre le cycle entéro-hépatique des lipides, on a mené quelques essais in vitro et in vivo, en comparaison avec une résine connue. Les résultats en sont résumés ci-après.

On a utilisé les résines préparées d'après l'Exemple II et l'Exemple III, désignées respectivement par les sigles SSC₁ et SSC₂. En tant que résine de référence, on a utilisé la Colestiramine, ayant les caractéristiques suivantes, qui peut être considérée comme le meilleur produit actuellement disponible :

	- pourcentage de réticulation	2
	- pouvoir d'échange	3,2 méq/g
	- densité réelle	1,07 g/cm ³

30 Cette résine n'a pas de porosité.

1. Liaison in vitro du cholate de sodium à la Colestiramine, le SSC₁ et la SSC₂.

On prépare trois cuves contenant chacune 20 ml de cholate de Na à la concentration de 2 mg/ml dans une solution tampon de phosphate 0,02 M (pH 6); dans chaque cuve, on ajoute 1 ml de H₂O et des concentrations croissantes des trois résines. Après agita-

35

tion à 25°C pendant 30 mn, le contenu des cuves est filtré et l'acide cholique du filtrat est dosé en mg totaux par la méthode spectrophotométrique après réaction avec l'acide sulfurique (Kier et al., J. Clin. Invest. 40, 755, 1952).

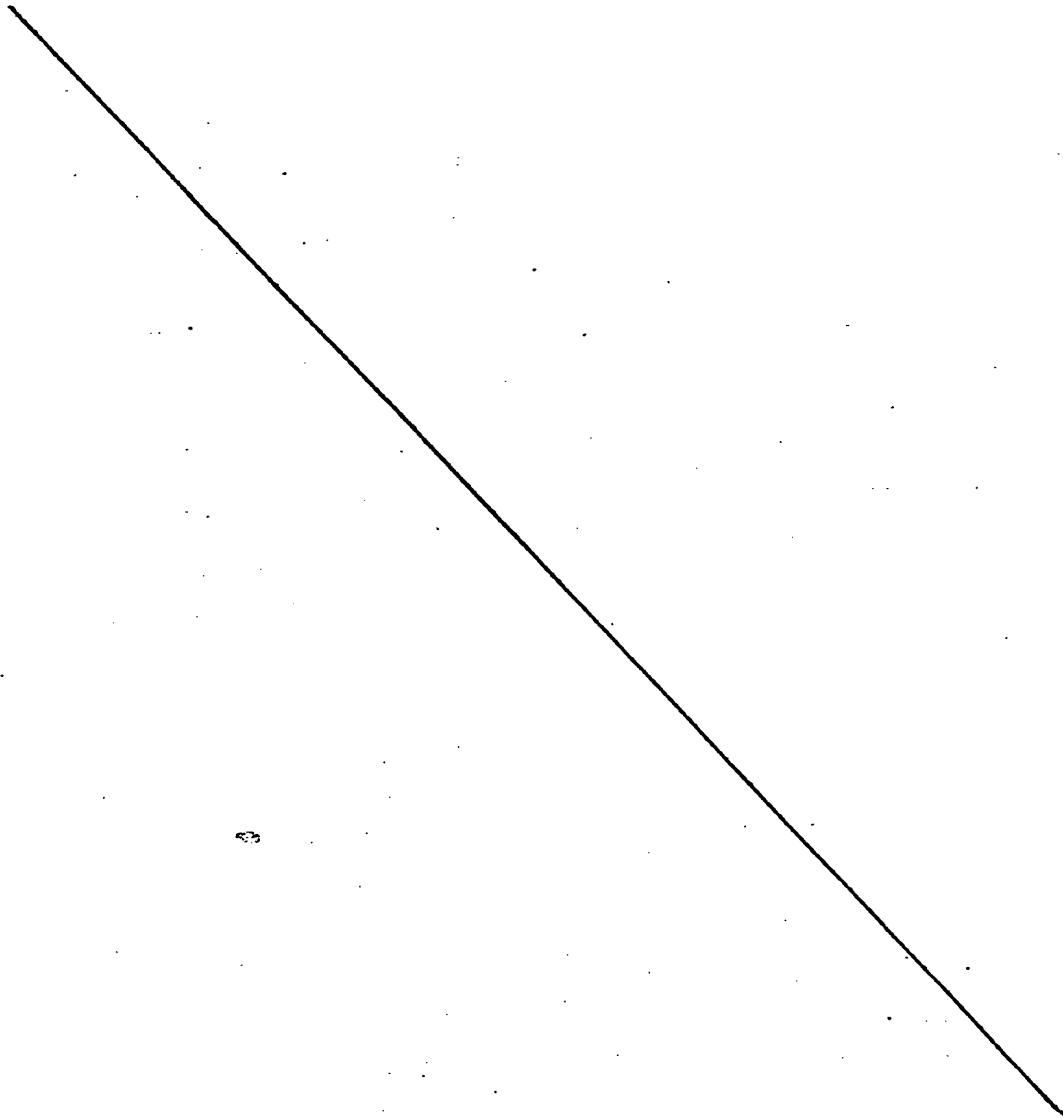
- 5 Les résultats obtenus sont présentés dans le Tableau 1 sous forme de la moyenne de dix essais effectués pour chaque résine. De ces valeurs, il ressort manifestement que les nouvelles résines SSC1 et SSC2 sont en mesure de fixer in vitro plus de cholestérol de sodium que la Colestiramine à égalité de poids à sec.
- 

TABLEAU 1

mg de résine sèche	20	40	60	80	100
Colestiramine	19 ± 0,8	12 ± 0,6	8 ± 0,2	6 ± 0,2	4 ± 0,8
SSC ₁	12 ± 0,4**	4 ± 0,5**	ND	ND	ND
SSC ₂	11 ± 0,3*	8 ± 0,2*	1 ± 0,2*	ND	ND

ND : Acide cholique non dosable

* P < 0,05 par rapport à la colestiramine

** P < 0,01 " "

2. Elimination in vivo du cholate de sodium par la Col stiramine, la SSC1 et la SSC2.

Des rats mâles de la race Wistar, pesant 150 g, ont été mis à un régime standard contenant 1% de cholestérol et 0,50 % de cholate de sodium. Les rats étaient répartis en 4 groupes de 6 chacun. Dans le premier groupe, les rats ont reçu uniquement le régime standard; dans le deuxième groupe, ils ont aussi reçu la résine Colestiramine, dans le troisième groupe la résine SSC1 et dans le quatrième groupe la résine SSC2. Toutes les résines utilisées ont été administrées par os à la dose de 800 mg/kg en deux prises par jour.

Au bout de 7 jours après le début du traitement, on a administré aux rats, le soir pendant 3 jours, par sonde gastrique, une solution de cholate de Na dissous dans le tampon phosphaté, contenant 10 mg de cholate et 0,1 µg de Cholate de Na au C^{14} . Les rats furent transférés dans des cages métaboliques individuelles et les excréments furent recueillis pour le comptage de radioactivité pendant 3 jours à partir du début du traitement par le cholate de Na au C^{14} . La radioactivité fécale a été contrôlée quotidiennement et les résultats exprimés en pourcentage des témoins.

Avec la Colestiramine, on a observé le premier jour une augmentation de 80% de la radioactivité par rapport aux témoins. Le pourcentage d'augmentation était de 84% et de 87% dans les deux jours suivants.

Avec la SSC1, l'augmentation de l'excrétion de radioactivité dans les trois jours a été de 126, de 144 et de 163 %.

Avec la SSC2, ces valeurs ont été de 138, 151 et 149%. L'analyse statistique des données a montré que ces différences des deux résines par rapport à la Colestiramine sont hautement significatives.

Les essais cliniques ont confirmé les résultats obtenus dans les essais de laboratoire, traduisant même une supériorité plus marquée des nouvelles résines par rapport à la Colestiramine.

Les essais de toxicité menés sur les résines préparées selon les exemples 1,2 et 3 ont indiqué que la DL_{50} ne peut pas être déterminée.

Les doses thérapeutiques sont comprises entre 15 et 20g/jour, par administration de 5-7g une heure avant les repas.

REVENDEICATIONS

=====

1.- Résine anionique microporeuse à action hypocholestérolémiante, consistant en une résine polystyrénique alkylaminée réticulée, caractérisée par un pouvoir d'échange d'ions de 3,9-6, une porosité de 0,4-0,6 cm³/g, une surface spécifique de 70-100 m²/g, une densité réelle de 0,9-1,1 g/cm³, une densité apparente de 0,5-0,6 g/cm³, les pores ayant une structure stéréospécifique stéroïdique avec un diamètre moyen compris entre environ 150 et 200 Å.

2.- Procédé pour la préparation d'une résine anionique microporeuse à action hypocholestérolémiante, caractérisé en ce qu'une matrice réticulée polystyrénique microporeuse est préparée par polymérisation de styrène avec 8-20 % en poids d'un monomère réticulant en présence de 80-150 % en poids, par rapport au poids des monomères, d'une substance porogène présentant une structure spatiale stéroïdique et en ce que le polymère microporeux ainsi formé est modifié chimiquement par introduction de groupes alkyl-amino contenant de l'azote ternaire ou quaternaire.

3.- Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que la substance porogène est choisie dans le groupe constitué par le squalène, les paraffines solides ou liquides, les stéroïdes hydrogénés, le naphthalène ou des composés similaires ayant une structure spatiale stéroïdique et un poids moléculaire compris entre 200 et 500.

4.- Procédé selon la revendication 2 ou 3, caractérisé en ce que la substance porogène est éliminée de la matrice polymère par un solvant organique approprié.

5.- Composition thérapeutique à action hypocholestérolémiante, caractérisée en ce qu'elle contient en tant que principe actif une résine polystyrénique alkylaminée réticulée et microporeuse ayant une capacité d'échange d'ions de 3,9-6, une porosité de 0,4-0,6 cm³/g, une surface spécifique de 70-100 m²/g, une densité réelle de 0,9-1,1 g/cm³, une densité apparente de 0,5-0,6 g/cm³, les pores ayant une structure stéréospécifique stéroïdique avec un diamètre moyen compris entre environ 150 et 200 Å.

DOUZE PAGES.-

P/P de la société dite : Etablissements VIRIDIS

Le Mandataire : OFFICE BLETRY